

THESIS

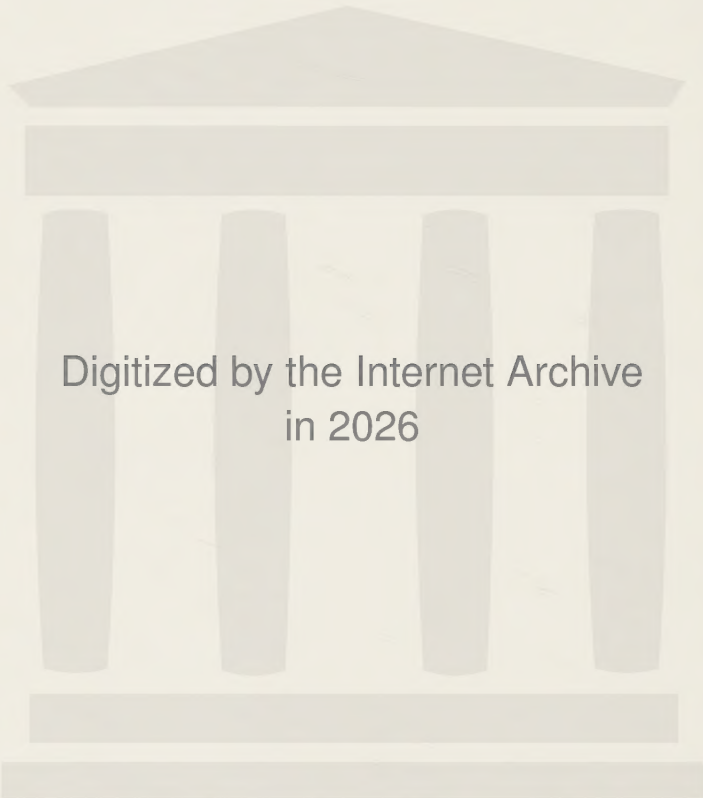
München

1968

**Die Bedeutung der Lipoidlöslichkeit
für die Resorption
subcutan injizierter Substanzen**

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
MEDICAL CENTER
STANFORD, CALIF. 94305

Helmut Trunk



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem
Pharmakologischen Institut der Universität München

Direktor
Prof. Dr. M. Kiese

Die Bedeutung der Lipoidlöslichkeit für die Resorption
subcutan injizierter Substanzen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Helmut Trunk
aus
Lichtenfels/Main

Jahr
1968

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Univ.-Doz. Dr. H. KURZ

Mitberichterstatter: Prof. Dr. M. KIESE

Dekan: Prof. Dr. F. MARGUTH

Tag der mündlichen Prüfung: 1. 10. 1968

Meinen Eltern in Dankbarkeit

Für die Überlassung des Themas, sowie für die mannig-
fachen Anregungen und die mir jederzeit gewährte
Unterstützung sage ich Herrn Univ.-Doz. Dr. H. KURZ
meinen ergebensten Dank.

Inhaltsübersicht

	Seite
A. Einleitung	4
B. Versuche	10
1. Methode	10
2. Ergebnisse	15
C. Diskussion	20
1. Kritik der Methode	20
2. Verteilungskoeffizient	20
3. Deutung der Versuchsergebnisse	22
4. Schlußfolgerungen	25
D. Zusammenfassung	27
E. Literaturverzeichnis	28

A. Einleitung

Es ist anzunehmen, daß die langsame Resorption von Arzneimitteln nach subcutaner Injektion durch die relativ geringe Durchblutung des subcutanen Bindegewebes bedingt ist. Denn nach Injektion der gleichen Substanzen in das besser durchblutete Muskelgewebe erfolgt die Resorption wesentlich schneller.

Bis jetzt sind nur wenige experimentelle Arbeiten bekannt, die sich mit der subcutanen Resorption befassen. SCHOU (1) hat dies in einem Übersichtsartikel zusammengefaßt.

Die Aufnahme subcutan injizierter Substanzen erfolgt nach WEPF (2) hauptsächlich über die Blutgefäße und nur zum geringen Teil über die Lymphbahnen. Auch STONE und MILLER (3) kommen zu dem gleichen Ergebnis.

Bei Untersuchungen der Permeation von Substanzen in das Lebergewebe (21) und vom Blut in den Liquor (23) hat man gefunden, daß bestimmte physikalisch-chemische Eigenschaften der untersuchten Substanzen von Bedeutung für die Resorptionsgeschwindigkeit sind.

Unsere Überlegungen gingen von folgenden allgemeinen Tatsachen aus. Bei der Aufnahme von Substanzen in den Organismus, ihrer Verteilung, dem chemischen Umbau und der Ausscheidung haben diese **M e m b r a n e n** im Körper zu durchdringen. Es ist sehr schwierig, diese Membranen anatomisch nachzuweisen und man schließt vorwiegend aus dem funktionellen Verhalten auf ihre Existenz. DETTLI und SPRING (4) bezeichnen daher als Membran: "Jede Struktur, durch welche Transport in anderer Weise vor sich geht, als im umgebenden Medium". Der Durchtritt von Substanzen durch die Membran wird als Permeation bezeichnet.

Seit etwa 100 Jahren sind diese Membranen und die Permeation durch dieselben Gegenstand zahlreicher Untersuchungen.

1899 stellte OVERTON (5) bei seinen Versuchen mit organischen Substanzen an pflanzlichen und tierischen Zellen eine Abhängigkeit der Resorption von der Lipoidlöslichkeit fest. Als Maß für die Lipoidlöslichkeit benutzte er den Verteilungskoeffizienten ⁺⁾ . Der VK gibt an, in welchem Verhältnis sich eine Substanz in einem System verteilt, das aus zwei beschränkt miteinander mischbaren flüssigen Phasen besteht. Overton benutzte zur Bestimmung der VK die Phasen Öl und Wasser. Substanzen mit hohem VK Öl/Wasser (= gut lipoidlöslich) diffundierten schneller durch die Zellmembran als solche mit niedrigem VK Öl/Wasser (= schlecht lipoidlöslich). Er nahm demzufolge an, daß die Zellmembran einen lipoiden Charakter habe.

COLLANDER und BARLUND (6) kamen dann auf Grund ihrer Permeabilitätsstudien an Blattzellen von Chara ceratophylla zu der Annahme, daß die Zellmembran nicht als kontinuierlicher Lipoidfilm (Overton), sondern am besten als eine Lipoidmembran mit kleinen wassergefüllten Poren anzusehen sei. Durch diese Vorstellung ließ sich erklären, daß auch kleine, lipoidunlösliche Moleküle, welche die Lipoidschicht nicht durchdringen können, durch diese Poren in das Zellinnere eindringen.

Den Unterschied in der Diffusion für Anionen und Kationen versuchte MICHAELIS (7) durch positive oder negative Ladung der Membran zu erklären.

Außer dieser Art der Permeation wurde dann später durch zahlreiche Versuche gefunden (8), daß gewisse Moleküle, wie z.B. Aminosäuren und Glucose, Membranen durchdringen, obwohl sie relativ lipoidunlöslich und zu groß sind, um

⁺⁾ Verteilungskoeffizient im folgenden Text als VK bezeichnet

durch die Poren zu diffundieren. Für ihren Durchtritt wurde ein aktiver Vorgang angenommen.

Demnach unterscheidet man bei der Permeation der verschiedenen Membranen zwischen aktiven und passiven Prozessen. Das folgende Schema nach KRUGHØFFER (9) gibt eine Übersicht über die aus verschiedenen Versuchsergebnissen abgeleiteten Transportarten.

Passiv	Einfache Diffusion	Durch kontinuierl. Wasserphase	Die Eindringgeschw. ist proportional der Konzentrationsdifferenz
	Aktiviert Diffusion	Durch nichtwässrige Phase	
	Erleichterte Diffusion (facilitated diffusion)	Reversible Bindung an einen Träger in der Membran. Die Bewegung des Trägers erfolgt durch molekulare Thermobewegung	Die Eindringgeschwindigkeit hat eine obere Grenze infolge Sättigung des Systems
Aktiv	Erleichterter Transport (facilitated penetration)	Reversible Bindung an einen Träger in der Membran. Der Transport erfolgt unter Energieverbrauch	
	Transport gegen das Konzentrationsgefälle	Transportmechanismus nicht definiert.	

An Zellen in Gewebekulturen beobachtet man sowohl licht-mikroskopisch als auch elektronenoptisch die Aufnahme von kleinen Tröpfchen des extrazellulären Mediums durch Pseudopodien bzw. Einsenkung der Plasmahaut und anschließender Verlagerung in das Zellinnere (10). Man bezeichnet diesen Vorgang als Pinocytose. Über die physiologische Bedeutung der Pinocytose ist noch nicht viel bekannt. Sie scheint lediglich bei Amöben und in geringem Ausmaß für die Aufnahme von Proteinen oder anderen Makromolekülen eine gewisse Rolle zu spielen (11).

Für die Baustoffe und Struktur der Membran hat DANIELLI (12) ein Modell vorgeschlagen (siehe Abb. 1).

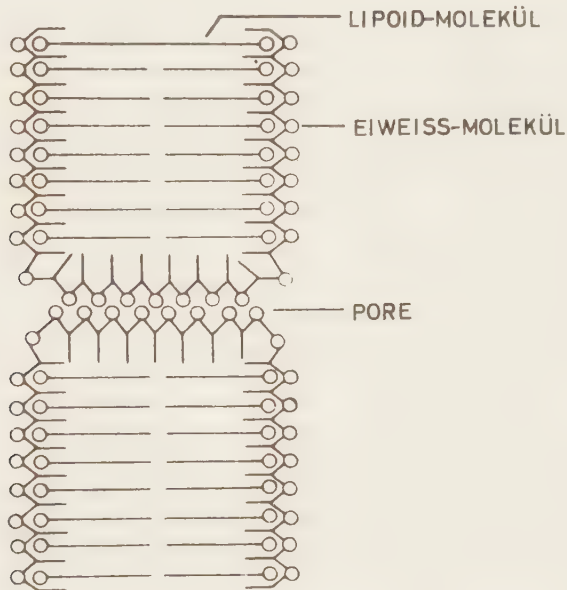


Abbildung 1

Schematischer Querschnitt eines Membran-Modells.
Nach DANIELLI (12)

Dieses Modell besteht aus einer bimolekularen, gerichteten Lipidschicht (Phosphatide und Cholesterin), die beiderseits von einer molekularen Schicht gestreckter Proteine bedeckt ist. Die Dicke dieser Membran beträgt ca. 100 Å, ferner sind Poren in ihr enthalten, deren Durchmesser je nach dem Ort, an welchem diese Membranen vorkommen, zwischen 4 - 40 Å variiert. Die Poren sind innen von Proteinmolekülen ausgekleidet.

Im Organismus kennt man bereits viele Membranen, die dem Modell von Danielli entsprechen und vorzugsweise für Stoffe mit hohem VK Öl/Wasser durchlässig sind (13).

So finden sich z.B. solche Membranen im gesamten Verdauungstrakt (14-19) und in der Haut (20). In der Leber (21), der Niere (22) und dem Zentralnervensystem (23) konnte ebenfalls die Existenz einer Lipoid-Porenmembran nachgewiesen werden.

Auch an den einzelnen Zellen darf man eine Lipoidmembran annehmen. Es ist schwierig, tierische Zellen isoliert und unverändert zu erhalten. Die meisten Untersuchungen wurden daher an menschlichen Erythrozyten gemacht (24, 25).

Aber nicht nur an den Zellen, selbst innerhalb derselben muß man Lipoidmembranen annehmen. Die Erkenntnisse hierüber gehen auf Untersuchungen an Mitochondrien (26) und Mikrosomen (27) zurück.

Wie bereits am Anfang erwähnt, erfolgt die Resorption von subcutan injizierten Substanzen in der Hauptsache über die Blutgefäße, genauer gesagt, die Blutkapillaren, deren Wand die injizierten Substanzen durchdringen müssen. Zahlreiche Untersuchungen haben sich mit dem Problem der Kapillarpermeabilität beschäftigt (28, 29, 30, 31). PAPPENHEIMER und RENKIN (32) kommen in einer Zusammenfassung und erweiterten Form ihrer früheren Arbeiten zu folgendem Ergebnis.

Die Kapillärwand verhält sich wie eine Lipoid-Porenmembran, bei deren Durchquerung zwei Prozesse im Vordergrund stehen.

Diffusion

Lipoidlösliche Substanzen durchdringen die Kapillärwand in Abhängigkeit ihrer VK Öl/Wasser.

Kleine lipoidunlösliche Moleküle und Ionen passieren die Kapillärwand über die in ihr enthaltenen Poren. Ihre Permeationsgeschwindigkeit ist im Verhältnis zu lipoidlöslichen Molekülen vergleichbarer Größe um ein Vielfaches kleiner. Das ist verständlich, da die Poren nur $< 0,1\%$ der gesamten Kapillaroberfläche einnehmen und nur einen wirksamen Durchmesser von ca. $62 \text{ \AA}$ besitzen.

Filtration

Wenn sich die Molekülgröße lipoidunlöslicher Substanzen der Porengröße nähert, wird die Diffusion beschränkt. Solche Moleküle können noch durch Filtration die Poren der Kapillärwand passieren. Das Ausmaß der transkapillaren Filtration ist allerdings sehr gering.

Diese Ergebnisse von Pappenheimer und Renkin gelten für die Kapillaren der **M u s k u l a t u r** des isoliert durchströmten Hinterbeins der Katze und des Hundes.

Uns interessierte, ob die Blutgefäße, welche für die Resorption nach subcutaner Injektion eine Rolle spielen, ebenfalls die Eigenschaften einer Lipoid-Porenmembran besitzen. Deshalb haben wir Untersuchungen der Resorption subcutan injizierter Substanzen an der isoliert durchströmten hinteren Kaninchenextremität durchgeführt.

B. Versuche

1. Methode

a. P r ä p a r a t i o n

Die Versuche wurden an Kaninchen von etwa 3 kg Gewicht durchgeführt. Die Tiere erhielten zur Narkoseeinleitung eine intravenöse Injektion von Chloralose-Urethan (siehe Tab. 1). Nach einer halben Stunde wurde durch zusätzliche Atherinhalation die für die Präparation erforderliche Narkosetiefe erreicht.

Die Haare an der Bauchhaut und hinteren Extremität wurden abrasiert und die Bauchhöhle, entlang der Linea alba, vom Sternum bis zur Symphyse eröffnet. Um die linken Vasa iliaca externa freizulegen, gingen wir folgendermaßen vor.

Die Dünndarmschlingen und der Dickdarm wurden nach rechts verlagert und die meist gefüllte Harnblase entleert. Bei weiblichen Tieren folgte die Exstirpation des linken Uterushornes nach vorheriger Unterbindung und Durchtrennung der dazugehörigen Gefäße und des Mesometriums. Die Arteria und Vena iliaca externa sinistra konnten nun gut freipräpariert werden.

Bevor die hintere Extremität über die Vasa iliaca externa isoliert durchströmt wurde, mußten alle für einen Kollateralkreislauf in Frage kommenden Gefäße ausgeschaltet werden. Es wurden daher unterbunden: A.iliaca interna, V.iliaca interna communis, A. und V. iliolumbalis sin., Aa. und Vv. vesicales sin.. Die Vasa epigastrica inferiora und die A. und V. epigastrica superficialis wurden dicht über dem linken Leistenband abgeklemmt.

Um das Blut ungerinnbar zu machen, wurde eine Lösung von Polyäthylensulfonsaurem Natrium intravenös injiziert (siehe Tab. 1). Nach Abbinden des cranialen Teils der Vasa iliaca externa wurden Glaskanülen in den caudalen Teil der Gefäße, dicht über dem Ligamentum inguinale, eingebunden.

Anschließend wurde die Extremität mit ca. 80 ml, mit Sauerstoff gesättigtem und ungerinnbar gemachten Kaninchenblut als Vorlage über die Arteria iliaca externa durchströmt. Die Durchströmung wurde in der folgenden Weise vorgenommen (siehe Abb. 2). Das aus der Vene austretende Blut passierte eine mit Rührer versehene Glasfritte, um eventuelle Gerinnsel zurückzuhalten. Danach wurde es durch eine Schlauchpumpe in den Oxygenator gepumpt, dort auf 38° - 39° C erwärmt und mit Sauerstoff gesättigt. Dazu wurde "Carbogen", das zur Wasserdampfsättigung durch zwei Gaswaschflaschen strömte, im Gegenstrom in den Oxygenator geleitet. Die Sauerstoffsättigung lag danach zwischen 70 und 80 %. Das überschüssige "Carbogen" wurde in den Raum über der erwähnten Glasfritte geleitet, um das Blut bereits vor dem Oxygenator schon zum Teil mit Sauerstoff zu beladen. Auf diesem Weg passierte das Gasgemisch ein Quecksilbermanometer. Damit aus dem wasserdampfgesättigten "Carbogen" sich kein Wasser im Manometer abscheiden konnte, hatten wir zwischen Oxygenator und Manometer ein Glasgefäß als Tropfenfänger eingeschaltet. Ein ebenfalls eingeschalteter Blasenähler zeigte das Ausmaß des Gasstromes an.

Das so vorbehandelte Blut wurde in die Arterie infundiert und die Extremität mit einer Durchblutungsgeschwindigkeit von 2,5 ml/min durchströmt. Hierfür war ein arterieller Blutdruck von 70 - 80 mm Hg nötig. Dieser wurde durch den Gasdruck des "Carbogens" erzielt. Ein Druckregler hielt letzteren auf konstanter Höhe. Die Höhe des Druckes konnte am Quecksilber-Manometer kontrolliert werden.

Am arteriellen Zufluß war ein Überlauf angebracht, der ein evtl. zu großes Blutangebot in die Glasfritte ableitete und damit ein Hochsteigen des Blutes in den Oxygenator verhinderte.

Die Lösungen der Testsubstanzen (siehe Tab. 1) wurden innerhalb von 1 - 2 min an 5 - 6 Stellen der isoliert durchströmten Extremität subcutan injiziert. Besonders geeignet war dafür der mediale und laterale Teil der

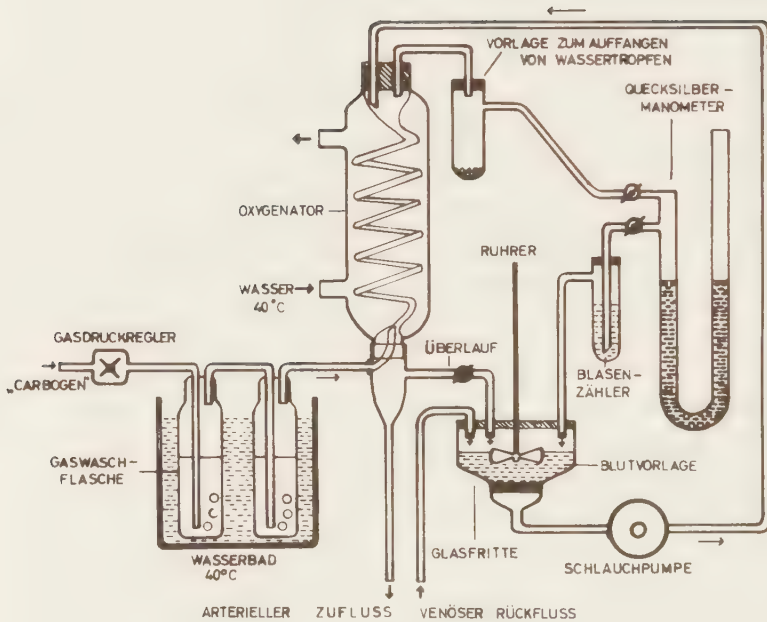


Abbildung 2

Schema der Versuchsanordnung zur isolierten Durchströmung der hinteren Kaninchenextremität

Extremität, wo die Haut mit dem darunter liegenden Gewebe nur locker verbunden ist. Bei der Injektion wurde darauf geachtet, daß keine Gefäße verletzt wurden.

Die Lösungen der injizierten Stoffe waren isoton. Würde man hypertone Lösungen anwenden, so käme es zu einem Flüssigkeitseinstrom vom Blut und umgebenden Gewebe zum Injektionsort. Bei hypotonen Lösungen würde ein zusätzlicher Flüssigkeitsstrom vom Injektionsort in umgekehrter Richtung auftreten.

In beiden Fällen käme es also zu einer Flüssigkeitsbewegung, welche die Diffusion beeinflussen würde. Durch Verwendung isotoner Lösungen ist das ausgeschlossen.

Die Lösungen wurden ferner auf einen pH-Wert von 7,4 eingestellt, um möglichst physiologische Bedingungen zu erreichen. Stark saure oder alkalische Lösungen führten zu Gewebsschädigungen und somit auch zu Störungen in der Durchblutung. Barbitol mußte allerdings in ungepufferter Lösung, bei einem pH-Wert von 8,8 injiziert werden, da es bei einem pH-Wert von 7,4 zum größten Teil wieder ausfiel. Beim pH-Wert von 8,8 wurden makroskopisch keine Gefäßveränderungen oder Gewebnekrosen festgestellt. Es war daher anzunehmen, daß auch die Permeabilität nicht verändert war.

In Abständen von 5 min, 10 min, 20 min und 40 min nach der subcutanen Injektion wurden jeweils 2 ml Blut aus dem venösen Rückfluß entnommen. Auf spätere Blutentnahmen mußten wir verzichten, da nach weiterer Versuchsdauer ein großer Teil des vorgelegten Blutvolumens über nicht erfaßbare Kollateralen in den Allgemeinkreislauf gelangt war.

Es wurde Wert darauf gelegt, daß die Kaninchen während der gesamten Versuchsdauer am Leben blieben. Denn bei Tieren, die kurz vor Beginn der Durchströmung getötet worden waren, war die Durchströmung der Extremität wesentlich ungleichmäßiger. Letzteres dürfte wahrscheinlich eine Folge der fehlenden nervösen Versorgung der Gefäße gewesen sein.

b. L ö s u n g e n

Tabelle 1

Zusammensetzung und Konzentrationen von Narkoselösung, der blutgerinnungshemmenden Lösung und der isotonen Lösungen der Testsubstanzen.

1. Narkose-Lösung

α -D (+) Glucochloralose	12,5
Urethan	125,0
Aqua dest.	ad 250,0

Von dieser Lösung wurden 1,1 ml je kg Körpergewicht injiziert.

2. Blutgerinnungshemmende Lösung

Polyäthylensulfons.-Na	2,0
NaCl-Lös. 0,9 %ig	ad 100,0

Von dieser Lösung wurde 1 ml je kg Körpergewicht injiziert.

3. Lösungen der Testsubstanzen für die subcutane Injektion

Anilin	2,0 mg/ml Injektionslösung
Phenazon	10,0 mg/ml "
Barbital-Na	43,8 mg/ml "
Salicylsäure-Na	19,8 mg/ml "
Sulfosalicyls.-Na	7,5 mg/ml "

Das Volumen der injizierten Lösungen betrug 20 ml. Anilin, Phenazon und Sulfosalicylsäure ergaben in der oben angeführten Konzentration hypotone Lösungen. Die Isotonie wurde durch Zugabe einer entsprechenden Menge Salzlösung nach HANKS (33) erreicht.

c. A n a l y s e n

Um den nicht an Plasmaproteine gebundenen Anteil zu erfassen, wurde die Konzentration der untersuchten Substanzen im Ultrafiltrat der entnommenen Blutproben bestimmt. Dazu wurden die zu den verschiedenen Zeiten entnommenen Blutproben in Dialysierschläuche von 18 mm Ø gefüllt. Diese wurden zugeknötet, in Zentrifugengläser gelegt, die Metalleinsätze mit einem Boden aus feinem V_2A -Maschendraht enthielten, und ca. 12 - 14 Stunden im Kühlraum bei $+ 1^{\circ}$ bis $+ 2^{\circ}$ C und $1500 \times g$ zentrifugiert.

Unter den Siebeinsätzen sammelte sich ein klares, farbloses und eiweißfreies Filtrat, in dem die Konzentration der bei den Versuchen angewandten Testsubstanzen wie folgt bestimmt werden konnte.

Anilin: Nach BRATTON und MARSHALL (34)

Phenazon: Nach BRODIE et al. (35)

Barbital: Nach GOLDBAUM (36)

Salicylsäure und Sulfosalicylsäure: Die von BRODIE et al. (37) angegebene Methode wurde folgendermaßen modifiziert. 3 ml Ultrafiltrat wurden mit 0,3 ml Fe-Reagenz $[1,2 \text{ g Fe(NO)}_3 / 10 \text{ ml } 1n \text{ HNO}_3]$ versetzt und die Lichtabsorption des entstandenen Fe III-Komplexes bei $540 \text{ m}\mu$ gemessen.

2. Ergebnisse

Bei der Auswahl der subcutan injizierten Substanzen gingen wir von folgender Überlegung aus.

Will man aus der Permeation der Testsubstanzen auf die Eigenschaften der Kapillarmembran schließen, so müssen die injizierten Gifte möglichst verschiedene physikalisch-chemische Eigenschaften aufweisen. Es sollten außerdem Stoffe sein, bei denen kein aktiver Transport anzunehmen ist.

Um die Meßergebnisse miteinander vergleichen zu können, haben wir diese in $\frac{c_t}{c_{\max}}$ umgeformt. Dabei bedeutet c_t die Konzentration der Substanz im Blut zum jeweiligen Zeitpunkt t . $c_{\max}$ gibt die Konzentration an, die bei gleichmäßiger Verteilung der Substanz nach Diffusionsgleichgewicht im Blut- und Gewebewasser der gesamten Extremität vorhanden wäre.

Den Wassergehalt der Extremität bestimmten wir aus der Gewichts Differenz der Extremität durch Trocknen bei 110°C bis das Gewicht konstant blieb.

Durch die Umwandlung in $\frac{c_t}{c_{\max}}$ wurde gleichzeitig ein eventueller Einfluß der Proteinbindung auf die Ergebnisse eliminiert.

Es war nicht zu erwarten, bei verschiedenen Präparaten gleiche Bedingungen hinsichtlich der Strömungsverhältnisse und wirksamen Kapillaroberfläche vorzufinden. Um dadurch bedingte Fehler auszuschließen, hatten wir daher der jeweiligen Testsubstanz immer Phenazon als Vergleichssubstanz zugesetzt. Aus allen Versuchen wurde dann eine Phenazon-Mittelkurve errechnet und auf diese Mittelkurve die Ergebnisse der anderen Testsubstanzen bezogen. In Abb. 3 sind die Ergebnisse graphisch dargestellt.

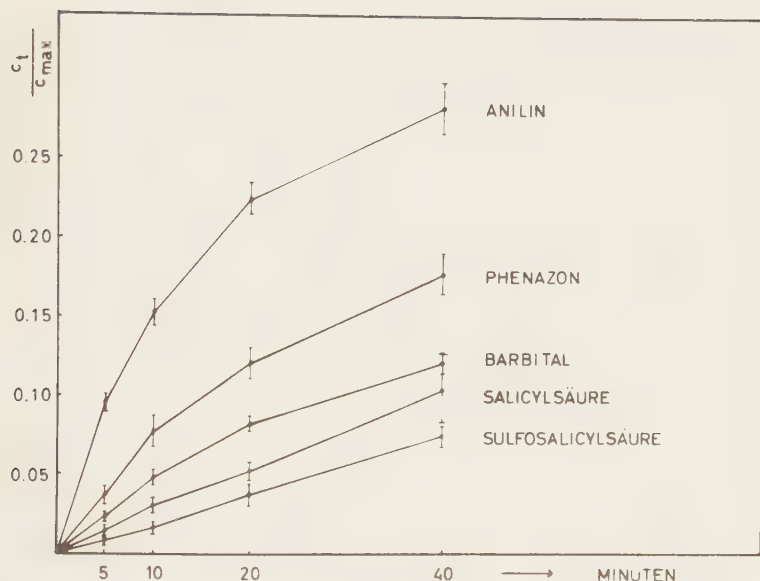


Abbildung 3

Anstieg der relativen Konzentration der untersuchten Substanzen im Blut der isoliert durchströmten Extremität. c_t ist die Konzentration der Substanz im Blut zum Zeitpunkt t . $c_{\max}$ gibt die Konzentration an, die bei gleichmäßiger Verteilung der Substanz nach Diffusionsgleichgewicht im Blut- und Gewebewasser vorhanden wäre. Die eingezeichneten Punkte sind Mittelwerte aus 3 bis 19 Versuchen.

Bei der Bestimmung des Anilins fanden wir, daß im Blut, das ohne zwischengeschaltete Extremität durch den Oxygenator strömte, die Konzentration des Anilins abnahm. Diese Abnahme konnte nicht durch Verdampfen des Anilins im "Carbogen"-Strom bedingt sein, da in letzterem kein Anilin nachweisbar war. Wir nahmen daher an, daß es im Blut zum Teil chemisch verändert wird. Um den sich daraus bei der Bestimmung des Anilins ergebenden Fehler auszuschließen, gingen wir folgendermaßen vor.

Frisches Kaninchenblut ließen wir bei 37°C ohne zwischengeschaltete Extremität durch den Oxygenator laufen. Die Konzentration des Anilins im Blut entsprach der maximal erreichten Konzentration im Kaninchenpräparat nach 40 min. In den nach 5 min, 10 min, 20 min und 40 min entnommenen Blutproben wurde die Abnahme der Anilinkonzentration bestimmt. Diese Werte wurden zur Korrektur der im Kaninchenversuch erhaltenen Ergebnisse benutzt.

Die Kurven in Abb. 3 zeigen, daß die untersuchten Substanzen verschieden schnell in das Blut übergehen. Je steiler die Kurven, desto schneller erfolgt die Resorption der Substanzen. So wird z.B. Anilin rascher resorbiert als Sulfosalicylsäure. Da Änderungen in der Durchblutungsgröße sich durch Verwendung von Phenazon als Vergleichssubstanz ausschließen ließen, mußten die verschiedenen Resorptionsgeschwindigkeiten durch andere Eigenschaften bedingt sein.

In Tabelle 2 sind die Werte $\frac{c_t}{c_{\max}}$ für $t = 20 \text{ min}$ $\left[\frac{c_{20}}{c_{\max}} \right]$ den VK Heptan/Wasser bei pH 7,4 gegenübergestellt. Dabei sind die Testsubstanzen nach abnehmender Größe des Quotienten $\frac{c_{20}}{c_{\max}}$ geordnet.

Tabelle 2

Gegenüberstellung von $\frac{c_t}{c_{\max}}$ für $t = 20 \text{ min}$ $\left[\frac{c_{20}}{c_{\max}} \right]$ und der VK Heptan/Wasser bei pH 7,4. Die VK wurden Arbeiten von BRODIE und KURZ (22, 21) entnommen. Daneben enthält die Tabelle die Anzahl der Versuche und den mittleren Fehler des Mittelwertes.

	Zahl der Versuche	$\frac{c_{20}}{c_{\max}}$	Mittlerer Fehler des Mittels	VK Heptan/Wasser bei pH 7,4
Anilin	6	0,223	$\pm 0,017$	1,1
Phenazon	19	0,121	$\pm 0,011$	0,005
Barbital	3	0,081	$\pm 0,005$	0,001
Salicylsäure	5	0,051	$\pm 0,007$	0,000005
Sulfosalicylsäure	5	0,037	$\pm 0,007$	sehr klein

Beim Vergleich des Ausdrucks $\frac{c_{20}}{c_{\max}}$ mit den VK ergibt sich folgende Beziehung.

Je größer der VK ist, umso mehr nimmt auch der Ausdruck $\frac{c_{20}}{c_{\max}}$ zu. Das heißt also, die subcutan injizierten Substanzen werden umso schneller resorbiert, je größer ihr VK ist.

C. Diskussion

1. Kritik der Methode

Eine Möglichkeit, die Resorption nach subcutaner Injektion zu messen, besteht darin (SCHOU (1)), daß man das Gewebe der Injektionsstelle nach einer bestimmten Zeit heraus-schneidet, extrahiert und im Extrakt die Substanzmenge bestimmt. Aus der Differenz zwischen injizierter und wiedergefundener Menge wird auf den resorbierten Anteil geschlossen. Das Verfahren hat den Nachteil, daß man das Ausmaß der Resorption nicht fortlaufend messen kann, sondern nur einen Wert zu einem bestimmten Zeitpunkt erhält. Auch läßt sich eine Diffusion der Stoffe vom Injektionsort in das umgebende, nicht excidierte Gewebe, nicht sicher ausschließen. Das würde eine Resorption vortäuschen, die nicht vorhanden ist.

Diese Nachteile hatte unsere Methode nicht. Dadurch, daß wir die Extremität isoliert durchströmten, wurde der biochemische Umbau der Substanzen in der Leber und ihre Ausscheidung durch die Nieren ausgeschaltet. Die Resorption der einzelnen Substanzen aus dem subcutanen Bindegewebe konnte somit quantitativ bestimmt werden.

2. Verteilungskoeffizient

VERTON (5), wie auch COLLANDER und BÄRLUND (6) bestimmten den VK zwischen Olivenöl und Wasser und nannten ihn entsprechend VK Öl/Wasser.

Inzwischen benutzt man zur Bestimmung des VK als lipophile Phase statt Olivenöl verschiedene organische Lösungsmittel, wie z.B. Benzol, Chloroform, Dichloräthan, Tributyrin etc.. Bei diesen Lösungsmitteln treten aber Abweichungen in der Beziehung zwischen Permeationsgeschwindigkeit und VK auf. Das kann dadurch bedingt sein, daß manche Substanzen mit den organischen Lösungsmitteln in Reaktion treten. Chloroform z.B. soll nach BECKETT (38) rasch mit einigen

organischen Basen unter Bildung quaternärer Ammoniumverbindungen reagieren. Heptan dagegen hat sich bis jetzt als Lösungsmittel erwiesen, bei dem VK und Permeationsgeschwindigkeit am besten korreliert sind. Solange uns die tatsächlichen Membranlipide für Versuche in vitro nicht zugänglich sind, ist es zweckmäßig, weiterhin an dem Modellsystem Heptan/Wasser festzuhalten.

Die Bedeutung des VK für die Permeation ist in Abb. 4 gezeigt.

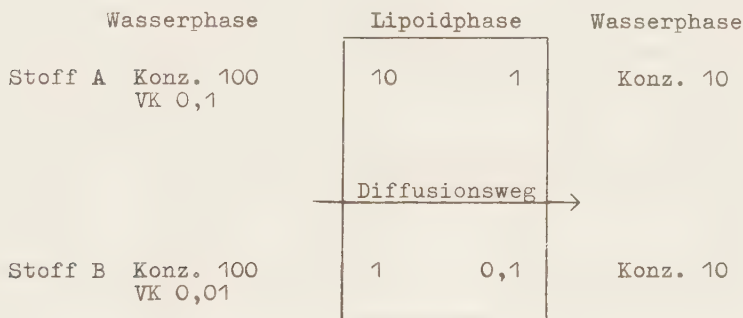


Abbildung 4 (nach COLLANDER und BARLUND (6)).

Verteilungsschema von zwei Stoffen mit verschiedenen VK (Stoff A: VK = 0,1; Stoff B: VK = 0,01) zwischen zwei durch eine Lipoidphase getrennten Wasserphasen.

Auf der einen Seite befinden sich die Substanzen A (VK: 0,1) und B (VK: 0,01), jeweils in der Konzentration 100. Sie werden sich in der lipoiden Phase bis zu einer Konzentration lösen, die ihrer Verteilung zwischen Lipoidphase und Wasserphase entspricht. Entsprechend dem entstandenen Konzentrationsgefälle werden dann die Substanzen in die Wasserphase diffundieren, wobei sich wieder ein Gleichgewicht entsprechend ihrer VK einstellt. Dieser

Vorgang wird bis zum Konzentrationsausgleich ablaufen. Der für die Diffusion entscheidende Faktor ist das Konzentrationsgefälle innerhalb der Lipoidphase. Deshalb wird bei einem hohen VK und damit großem Konzentrationsgradienten auch eine entsprechend schnellere Permeationsgeschwindigkeit resultieren. Im Beispiel der Abb. 4 Substanz A (Diffusionsgefälle $10 - 1 = 9$) also die Membran schneller als Substanz B (Diffusionsgefälle $1 - 0,1 = 0,9$) durchdringen.

3. Deutung der Versuchsergebnisse

Die Beziehung zwischen dem VK bei pH 7,4 und der Permeationsgeschwindigkeit ist für die Werte der Tab. 2 in Abb. 5 graphisch dargestellt. Auf der Abszisse ist der Logarithmus des VK, auf der Ordinate $\frac{c_{20}}{c_{\max}}$, als Ausdruck der Permeationsgeschwindigkeit, aufgetragen. Dabei wurde $\frac{c_{20}}{c_{\max}}$ für Phenazon gleich 1 gesetzt.

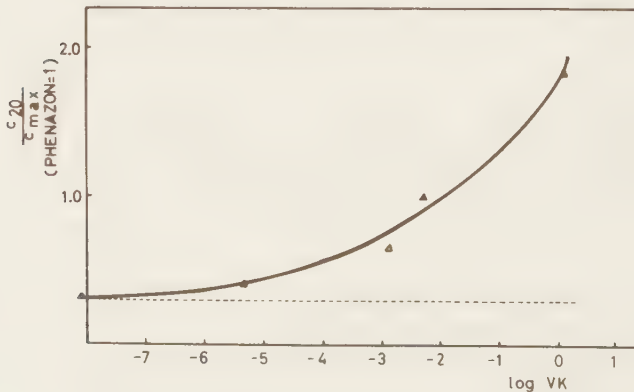


Abbildung 5

Graphische Darstellung der Beziehung zwischen dem Logarithmus des VK bei pH 7,4 und $\frac{c_{20}}{c_{\max}}$ der an der isoliert durchströmten Kaninchenextremität untersuchten Stoffe.

An dieser Darstellung der Ergebnisse wird deutlich, daß es für die Substanzen zwei Möglichkeiten der Permeation gibt, von denen die eine *a b h ä n g i g* (a) und die andere *u n a b h ä n g i g* (b) vom VK der permeierenden Substanzen ist.

a) Die Werte für die einzelnen Substanzen liegen auf einer asymptotisch verlaufenden Kurve, welche mit steigendem VK ebenfalls ansteigt. Das bedeutet, daß die Permeationsgeschwindigkeit eine Funktion des VK ist.

b) Mit abnehmendem VK wird die Kurve immer flacher und nähert sich einer über der Abszisse liegenden horizontalen Linie (in Abb. 5 gestrichelt gezeichnet). Das bedeutet, daß unter einer bestimmten Größe des VK keine Abhängigkeit der Permeationsgeschwindigkeit vom VK mehr besteht.

Die unter a) beschriebene Möglichkeit der Permeation ist vor allem für gut lipoidlösliche Substanzen von Bedeutung. Sie läßt sich am besten damit erklären, daß auf dem Weg vom Injektionsort in das Blut eine Membran mit lipoiden Eigenschaften vorhanden ist. Diese Lipoidmembran läßt Stoffe mit hohem VK rascher hindurchdringen, als solche mit niedrigem VK.

Die unter b) beschriebene Möglichkeit der Permeation ist vor allem für wenig lipoidlösliche Substanzen von Bedeutung. Sie läßt sich dahingehend deuten, daß diese Substanzen durch wassergefüllte Poren in der Lipoidschicht der Membran permeieren. Diese Permeation durch die Poren erfolgt unabhängig vom VK.

Beide Möglichkeiten der Permeation sind an einer Lipoidmembran mit Poren verwirklicht.

Auch andere Membranen im Organismus scheinen ähnlich aufgebaut zu sein. Man nimmt aber an, daß Unterschiede im Verhältnis von Porenanteil zu Lipoidanteil bestehen.

In Abb. 6 ist das Verhalten von zwei Membranen mit verschiedenen Porenanteilen wiedergegeben. Dabei handelt es sich um die Permeation von Substanzen vom Blut in den Liquor (23) und vom Blut in das Lebergewebe (21). Zum Teil wurden die gleichen Stoffe wie in unseren Versuchen verwendet.

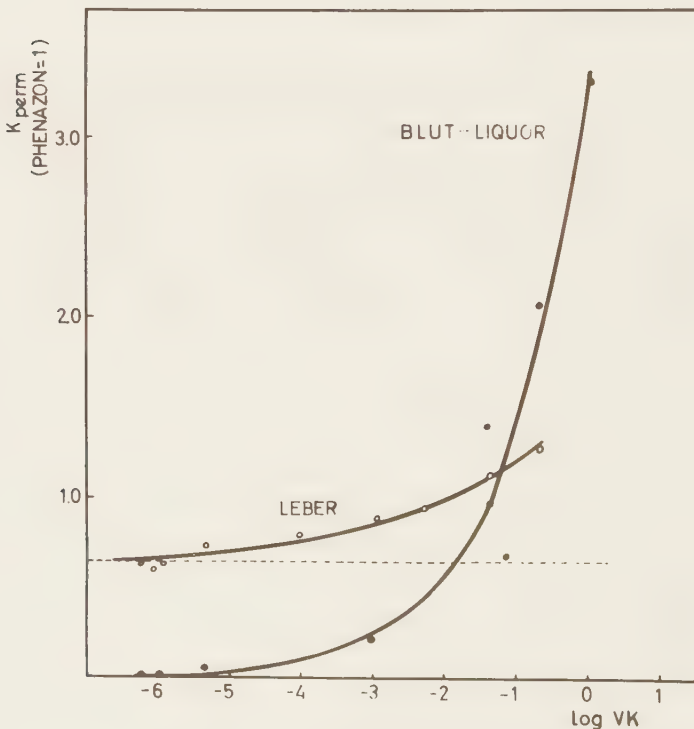


Abbildung 6

Graphische Darstellung der Beziehung zwischen dem Logarithmus des VK bei pH 7,4 und der Permeationsgeschwindigkeit für die Permeation von Substanzen vom Blut in den Liquor und vom Blut in das Lebergewebe.

Der steile Verlauf der Kurve für die B l u t - L i q u o r - S c h r a n k e zeigt den großen Einfluß des VK auf die Permeationsgeschwindigkeit. Mit kleiner werdendem VK nähert sich die Kurve rasch der Abszisse. Nicht lipoidlösliche Stoffe können praktisch nicht in den Liquor übergehen. Das bedeutet, daß die Blut-Liquor-Schranke eine Membran mit ausgeprägten lipoiden Eigenschaften sein muß, die keine, oder nur sehr wenig Poren besitzt.

Der Verlauf der Kurve für das L e b e r g e w e b e ist weniger steil, der Einfluß des VK auf die Permeationsgeschwindigkeit daher geringer. Sie zeigt aber noch ein anderes Verhalten. Während sich die Kurve für die Blut-Liquor-Schranke asymptotisch der Null-Linie der Permeationskonstanten nähert, nähert sich die des Lebergewebes einer Geraden über der Abszisse. Das bedeutet, daß zwar auch an der Membran zwischen Blut und Lebergewebe der VK noch einen gewissen Einfluß auf die Resorptionsgeschwindigkeit hat. Der Porenanteil scheint aber recht groß zu sein.

Die Membran, welche für die Resorption aus dem s u b - c u t a n e n B i n d e g e w e b e eine Rolle spielt, gleicht auf Grund ihres Porenanteils mehr der Membran in der Leber, als der Membran zwischen Blut und Liquor. Die lipoiden Eigenschaften scheinen aber ausgeprägter als an der Membran in der Leber zu sein.

4. Schlußfolgerungen

Auf Grund unserer Ergebnisse können wir folgendes annehmen. Die von PAPPENHEIMER und RENKIN (32) für die Permeation durch die Kapillaren im Muskel gefundenen Verhältnisse lassen sich auch auf die Kapillaren im subcutanen Bindegewebe übertragen. Hinsichtlich der Existenz einer Lipoid-Porenmembran besteht zumindest qualitativ kein Unterschied.

Da wir als Testsubstanzen "körperfremde" organische Gifte injizierten, ist anzunehmen, daß "aktive Mechanismen" bei der Resorption keine Rolle spielen. Die Permeation vom perivaskulären Gewebe in das Blut kann demnach als passive Diffusion entlang einem Konzentrationsgefälle durch eine Lipoid-Porenmembran bezeichnet werden.

Daraus ergibt sich, daß aus dem subcutanen Bindegewebe Substanzen mit hohem VK, und somit guter Lipoidlöslichkeit, wesentlich schneller resorbiert werden, als solche mit entsprechend kleinem VK. Das dürfte nicht nur von theoretischem Interesse sein, sondern kann sich auch bei der subcutanen Injektion von Arzneimitteln auswirken.

D. Zusammenfassung

1. Die Resorption von verschiedenen, subcutan injizierten Substanzen wurde an der isoliert durchströmten hinteren Extremität von Kaninchen untersucht.
2. Es wurde eine Abhängigkeit der Permeationsgeschwindigkeit vom Verteilungskoeffizienten Heptan/Wasser der Substanzen gefunden: Substanzen mit hohem VK werden schneller resorbiert, als solche mit entsprechend kleinem VK.
3. Diese Beziehung weist auf eine Membran mit lipoiden Eigenschaften zwischen dem subcutanen Bindegewebe und Blut hin.
4. Diese Membran muß außerdem Poren besitzen, die auch den Durchtritt von Substanzen mit niedrigem Verteilungskoeffizienten zulassen.
5. Die bei der Resorption aus dem subcutanen Bindegewebe wirksame Membran wird mit den Membranen zwischen Blut und Liquor sowie zwischen Blut und Lebergewebe verglichen.

E. Literaturverzeichnis

1. SCHOU, J.:
Absorption of drugs from subcutaneous connective tissue.
Pharmacol. Rev., Baltimore, 13, 441-464 (1961)
2. WEPF, R.:
Über den Resorptionsweg subcutan verabfolgter Substanzen.
Schweiz. med. Wschr. 78, 537-539 (1948)
3. STONE, P.W. and MILLER, W.B.:
Mobilization of radioactive sodium from gastrocnemius muscle of dog.
Proc. Soc. exper. Biol. Med., N.Y. 71, 529-534 (1949)
4. DETTLI, L. und SPRING, P.:
Beeinflussung der Resorption durch zelleigene und zellfremde Stoffe.
Pharmaz. Ztg., Berlin, 109, 1055-1060 (1964)
5. OVERTON, E.:
Über die allgemeinen osmotischen Eigenschaften der Zelle, ihre vermutlichen Ursachen und ihre Bedeutung für die Physiologie.
Vjschr. der Naturf. Ges. Zürich, 24, 88-135 (1899)
6. COLLANDER, R. und BARLUND, H.:
Permeabilitätsstudien an Chara ceratophylla.
Acta bot. fenn. 11, 1-114 (1933)
7. MICHAELIS, L.:
Die Permeabilität von Membranen.
Naturw. 14, 33-42 (1926)

8. HÖBER, R.:
Physikalische Chemie der Zellen und Gewebe.
Verlag Stämpfli & Cie. 1947
9. KRÜHÖFFER, P.:
The pharmacology of membranes. The passage of
substances across biological membranes.
J. Pharmacy. Pharmacol., London 13, 193-203
(1961)
10. STAUBESAND, J.:
Zur Morphologie der Aufnahme und der transzellu-
lären Passage von Stoffen durch Membranvesikula-
tion.
Pharmaz. Ztg. 109, 1130-1136 (1964)
11. BRODIE, B.B.:
Physico-chemical factors in drug absorption.
In "Absorption and distribution of drugs."
(Binns, T.B., Editor) E.u.S.Livingstone Ltd.
1964, 16-48
12. DANIELLI, J.F.; K.G.A. PANKHURST und A.C. RIDDIFORD:
Surface Phenomena in Chemistry and Biology.
Pergamon Press, London-New York-Paris-Los Angeles
1958, 246
13. SCHANKER, L.S.:
Passage of drugs across body membranes.
Pharmacol. Rev., Baltimore. 14, 501-530 (1962)
14. SHORE, P.A.; B.B. BRODIE and C.A. HOGBEN:
The gastric secretion of drugs: a pH partition
hypothesis.
J. Pharmacol. Exper. Therap., Baltimore. 119,
361-369 (1957)

15. SCHANKER, L.S.; P.A. SHORE; B.B. BRODIE and C.A.M.
HOGBEN:
Absorption of drugs from the stomach I. The rat.
J. Pharmacol. Exper. Therap., Baltimore. 120,
528-539 (1957)
16. HOGBEN, C.A.M.; L.S. SCHANKER; D.J. TOCCO and B.B. BRODIE:
Absorption of drugs from the stomach II. The human.
J. Pharmacol. Exper. Therap., Baltimore. 120,
540-545 (1957)
17. SCHANKER, L.S.; D.J. TOCCO; B.B. BRODIE and C.A.M.
HOGBEN:
Absorption of drugs from the rat small intestine.
J. Pharmacol. Exper. Therap., Baltimore. 123,
81-88 (1958)
18. HOGBEN, C.A.M.; D.J. TOCCO; B.B. BRODIE and L.S.
SCHANKER:
On the mechanism of intestinal absorption of
drugs.
J. Pharmacol. Exper. Therap., Baltimore. 125,
275-282 (1959)
19. SCHANKER, L.S.:
Absorption of drugs from the rat colon.
J. Pharmacol. Exper. Therap., Baltimore. 126,
283-290 (1959)
20. TREHERNE, J.E.:
The permeability of skin to some non-electrolytes.
J. Physiol. (Lond.) 133, 171-180 (1956)
21. KURZ, H.:
Die Permeation von Giften in die Leber.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. u. Pharmak.
247, 164-179 (1964)

22. BRODIE, B.B. and C.A.M. HOGBEN:
Some physico-chemical factors in drug action.
J. Pharmacy Pharmacol., London. 9, 345-380 (1957)
23. BRODIE, B.B.; H. KURZ and L.S. SCHANKER:
The importance of dissociation constant and
lipid-solubility in influencing the passage of
drug into the cerebrospinal fluid.
J. Pharmacol. Exper. Therap., Baltimore. 130,
20-25 (1960)
24. SCHANKER, L.S.; P.A. NAFPLIOTIS and J.M. JOHNSON:
Passage of organic bases into human red cells.
J. Pharmacol. Exper. Therap., Baltimore. 133,
325-331 (1961)
25. SCHANKER, L.S.; J.F. JOHNSON and J.J. JEFFEREY:
Rapid passage of organic anions into human red
cells.
Amer. J. Physiol. 207(2), 503-508 (1964)
26. TEDESCHI, H. and D.L. HARRIS:
The osmotic behaviour and permeability to non-
electrolytes of mitochondria.
Arch. Biochem. and Biophys. 58, 52-67 (1955)
27. GAUDETTE, L.E. and B.B. BRODIE:
Relationship between the lipid solubility of
drugs and their oxidation by liver microsomes.
Biochem. Pharmacol. 2, 89-96 (1959)
28. PAPPENHEIMER, J.R.; E.M. RENKIN and L.M. BORRERO:
Filtration, diffusion and molecular sieving
through peripheral capillary membranes. A
contribution to the pore theory of capillary
permeability.
Amer. J. Physiol. 167, 13-46 (1951)

29. RENKIN, E.M.:
Capillary permeability to lipoid-soluble molecules.
Amer. J. Physiol. 168, 538-545 (1952)
30. PAPPENHEIMER, J.R.:
Passage of molecules through capillary walls.
Physiol. Rev. 33, 387-423 (1953)
31. RENKIN, E.M.:
Capillary and cellular permeability to some compounds related to antipyrine.
Amer. J. Physiol. 173, 125-130 (1953)
32. RENKIN, E.M. und J.R. PAPPENHEIMER:
Wasserdurchlässigkeit und Permeabilität der Kapillarwände.
Erg. Physiol. 49, 59-126 (1957)
33. HANKS, J.H. and R.E. WALLACE:
Relation of oxygen and temperature in the preservation of tissues by refrigeration.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 71, 196 (1949)
34. BRATTON, A.C. and E.K. MARSHALL jr.:
A new coupling component for sulfanilamide determination.
J. biol. Chem. 128, 537-550 (1939)
35. BRODIE, B.B.; J. AXELROD; R. SOBERMAN and B.B. LEVY:
The estimation of antipyrine in biological materials.
J. biol. Chem. 179, 25-29 (1949)
36. GOLDBAUM, L.R.:
An ultraviolet spectrophotometric procedure for the determination of barbiturates.
J. Pharmacol. Exper. Ther. 94, 68-75 (1948)

37. BRODIE, B.B.; S. UDENFRIEND and A.F. COBURN:
The determination of salicylic acid in plasma.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 80, 114-117 (1944)
38. BECKETT, A.H.:
Physicochemical and steric factors in drug
absorption.
23. Int. Kongr. der pharmazeut. Wissenschaften
Münster (Westfalen) 1963, 125-143
Govi-Verlag GmbH Frankfurt/Main 1964

L e b e n s l a u f

Am 19. Juni 1935 wurde ich als Sohn des Oberregierungsrates Dr. Alfons T r u n k und seiner Ehefrau Else, geb. Roßkopf, in Nürnberg geboren.

Vom September 1941 bis April 1945 besuchte ich die Volksschule in Lichtenfels/Ofr., vom September 1946 bis zur Reifeprüfung im Juli 1954 die Städt. Oberrealschule in Lichtenfels.

Anschließend begann ich mit der Ausbildung zum Apotheker.

Vom 1. Oktober 1954 bis 30. September 1956 war ich als Praktikant in der Hof-Apotheke zu Bamberg/Ofr. tätig. Die pharmazeutische Vorprüfung legte ich im September 1956 in Bayreuth und Nürnberg ab.

Vom Winter-Semester 1956/57 bis einschließlich Winter-Semester 1959/60 studierte ich an der Universität Würzburg Pharmazie und legte dort im Frühjahr 1960 die pharmazeutische Staatsprüfung ab.

Vom 1. Mai 1960 bis 31. April 1961 war ich als Kandidat der Pharmazie in der Adler-Apotheke zu Würzburg tätig. Am 8. Juni 1961 erhielt ich die Bestallung als Apotheker.

Vom Sommer-Semester 1960 bis einschließlich Winter-Semester 1965/66 studierte ich an den Universitäten Würzburg und München Medizin und legte im Frühjahr 1966 in München die ärztliche Prüfung ab.

Vom 1. August 1966 bis 31. August 1968 war ich als Medizinalassistent tätig. Am 10. September 1968 erhielt ich die Bestallung als Arzt.

Nunmehr bewerbe ich mich erstmalig um den Doktorgrad der Hohen Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München.

